



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB**  
**CAMPUS II – AREIA-PB**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA**  
**CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**JONAS DOS SANTOS SILVA**

**ESTUDO *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DA *EUPHORBIA TIRUCALLI*  
LINNEAU EM MICROORGANISMOS ISOLADOS DE DERMATOPATIAS DE  
CÃES E GATOS.**

**AREIA - PB**  
**2018**

**JONAS DOS SANTOS SILVA**

**ESTUDO *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DA *EUPHORBIA TIRUCALLI*  
LINNEAU EM MICROORGANISMOS ISOLADOS DE DERMATOPATIAS DE  
CÃES E GATOS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba- UFPB/CAMPUS II.

**Orientador:** Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera.

**Coorientadora:** Prof. Dr. Anne Evelyne Franco de Souza.

**AREIA - PB  
2018**

### **Ficha catalográfica**

A ficha catalográfica deve ser inserida após a folha de rosto.

Na versão impressa deve vir no verso da folha de rosto.

**Não entra na contagem de páginas**

Deve ser solicitada no SIGAA: módulo Biblioteca >> Ficha Catalográfica >> Solicitar Ficha Catalográfica

**OBS:** NÃO ENCERRAR O VÍNCULO antes de gerar sua ficha catalográfica

Quaisquer dúvidas enviar e-mail para: [biblioteca@cca.ufpb.br](mailto:biblioteca@cca.ufpb.br).

**JONAS DOS SANTOS SILVA**

**ESTUDO *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DA *EUPHORBIA TIRUCALLI*  
LINNEAU EM MICROORGANISMOS ISOLADOS DE DERMATOPATIAS DE  
CÃES E GATOS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
como requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Medicina Veterinária pela  
Universidade Federal da Paraíba-  
UFPB/CAMPUS II.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera (Orientador)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

---

Biol. Vânia Vieira Reis  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

---

Med. Vet. Carla Fernandes da Conceição Medeiros  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

A Deus que nos criou e foi criativo nesta tarefa,  
Dedico esta, bem como todas às minhas demais  
conquistas, à minha avó, Maria da Penha dos S. Silva,  
à minha Mãe, Ana Maria dos S. Silva, e às pessoas com  
quem convivi ao longo desses anos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus, que sempre me deu capacidade para seguir em frente, independente dos obstáculos em minha vida. Sem Ele, nada disso seria possível.

Agradeço à minha Avó e à minha Mãe, que me apoiaram e juntas enfrentaram tantas dificuldades, para que eu pudesse chegar onde cheguei. Em especial à minha avó, Maria da Penha dos S. Silva, que sempre me deu auxílio nos momentos difíceis.

Agradeço ao meu eterno companheiro Marley (meu cachorro), onde quer que ele esteja, pois de certa forma me incentivou a ser uma pessoa melhor e a não desistir dos meus sonhos.

Sou grato ao pessoal do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva (UFPB / Campus II), por toda a contribuição participativa; aos Técnicos Vânia V. Reis e ao querido amigo Diogo V. Moura, que estiveram ao meu lado durante a elaboração e a execução deste trabalho.

Agradeço à Tereziana S. da Costa, técnica do Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química e Física (UFPB / Campus II), por todo apoio.

Gostaria de deixar o meu profundo agradecimento aos Professores Péricles de F. Borges pelo empenho dedicado ao meu projeto de pesquisa e Adriano F. Ferreira por todos os conselhos e ajuda durante a minha graduação.

Ao Meu Orientador Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera, que acompanhou meu percurso ao longo dos últimos anos, eu deixo uma palavra sincera de gratidão.

Não posso deixar de agradecer, em especial, à minha coorientadora, Prof. Dr. Anne Evelyne Franco de Souza, que tanto me incentivou durante a elaboração do meu TCC, me dando recursos e ferramentas para evoluir um pouco mais todos os dias, além da confiança que ajudou a tornar possível este sonho tão especial.

Aos meus amigos, que já são irmãos, Rubeilson Santos, Elidiane Cirilo, Uirai Ciríaco e Daniel Augusto, porque foram eles que me incentivaram e inspiraram desde muito tempo, por meio de gestos e palavras, a superar todas as dificuldades. Foram meu apoio na graduação. Nunca duvidaram das minhas capacidades e cada um de sua maneira particular tornou possível a realização do meu grande objetivo, são o conforto de saber que nunca estarei só e que serei sempre capaz de tudo, por maiores que sejam as dificuldades. Sem eles, nada de bom teria acontecido na universidade. Deixo aqui uma promessa de gratidão eterna.

Agradeço à Prof. Fátima Queiroz, que me apoiou, me auxiliou e sempre acreditou em mim durante toda minha caminhada.

A todos que não mencionei, mas que fizeram parte do meu percurso, e todos aqueles que me ajudaram a concluir a minha monografia. Obrigado por fazerem parte da minha vida! Esse TCC é de todos vocês!

“Aqueles que gostam e cuidam de animais, árvores, plantas e flores, e também das pessoas, são mais Humanos! ” - **Jean Charles Rinelli.**

## RESUMO

As afecções do sistema tegumentar são importantes na clínica de pequenos animais, a instituição de uma terapia adequada, em etiologia bacteriana, é prejudicada quando o antibiótico de primeira escolha não é eficaz e a sua escolha torna-se limitada quanto mais resistente se apresentar a bactéria, essa resistência é fonte de preocupação para a medicina veterinária, sendo o uso impróprio e abusivo dos antibióticos uma das principais causas da seleção de bactérias resistentes que vêm se disseminando mundialmente. Dentre as pesquisas existentes, destacam-se aquelas visando a bioprospecção com extratos de plantas medicinais em infecções bacterianas, um exemplo dessas plantas utilizadas na medicina popular, mas sem comprovação científica, é a *Euphorbia tirucalli* Linneau, conhecida popularmente como Avelós. O presente trabalho objetivou determinar a atividade antibacteriana *in vitro* dos extratos etanólicos vegetais da planta Avelós (*Euphorbia tirucalli* L.) em bactérias, isoladas e identificadas morfo-tintorialmente, provenientes de lesões cutâneas de pequenos animais. Duplicatas de Placas de Petri (A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>) contendo ágar Mueller-Hinton foram semeadas em superfície com culturas bacterianas de dermatopatias caninas e felinas. Foi utilizado o método de difusão em ágar, através do teste de difusão em disco inoculando 20 µL das diluições dos extratos testados (Látex 100% e Parte Aérea 100%, 80%, 60%) em discos brancos. As placas foram incubadas a 37°C/24h. Os halos de inibição quando existentes foram medidos e registrados. Os resultados mostraram que o extrato da *Euphorbia tirucalli* Linneau apresentou potencial antimicrobiano sobre o crescimento bacteriano, com formação de halos de inibição variando de 0,2 a 10,0 mm de diâmetros. A atividade antibacteriana confirmada foi apenas para o extrato etanólico da parte aérea, podendo ser devido à presença de taninos, saponinas e flavonóides que apresentam diversas aplicações biológicas comprovadas, embora padrões de sazonalidade parecem ter influenciado na capacidade inibitória do látex. Estes resultados mostraram que a utilização do extrato etanólico da *Euphorbia tirucalli* Linneau pode ser uma alternativa promissora para o controle de microrganismos bacterianos dermatológicos patogênicos na clínica médica de caninos e felinos.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, avelós, dermatologia, extrato alcoólico.



## ABSTRACT

### *IN VITRO* STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTION OF *EUPHORBIA TIRUCALLI* LINNEAU IN MICROORGANISMS ISOLATED FROM DERMATOPATHIES OF DOGS AND CATS.

The affections of the integumentary system are important in the small animal clinic. The establishment of a suitable therapy, in bacterial etiology, is impaired when the antibiotic of first choice is not effective and its choice becomes limited the more resistant the bacterium presents. This resistance is a source of concern for veterinary medicine, and improper and abusive use of antibiotics is one of the main causes of the selection of resistant bacteria that has spread worldwide. Among the existent researches, those that aim at bioprospecting with extracts of medicinal plants in bacterial infections, an example of these plants used in popular medicine, but without scientific evidence, is the *Euphorbia tirucalli* Linneau, popularly known as Avelós. The present work aimed to determine the *in vitro* antibacterial activity of the plant extracts of the Avelós (*Euphorbia tirucalli* L.) plant in bacteria, isolated and identified morpho - tintorially, from skin lesions of small animals. Duplicates of Petri dishes (A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub>) containing Mueller-Hinton agar were seeded on the surface with bacterial cultures of canine and feline dermatopathies. The agar diffusion method was used by the disc diffusion test inoculating 20 µL of the dilutions of the tested extracts (Latex 100% and Air Part 100%, 80%, 60%) on white discs. Plates were incubated at 37 ° C / 24h. Inhibition halos where available were measured and recorded. The results showed that the extract of *Euphorbia tirucalli* Linneau presented antimicrobial potential on bacterial growth, with formation of inhibition halos varying from 0.2 to 10.0 mm of diameters. The confirmed antibacterial activity was only for the ethanolic extract of the aerial part, and may be due to the presence of tannins, saponins and flavonoids that have several proven biological applications, although patterns of seasonality seem to have influenced the inhibitory capacity of the latex. These results showed that the use of the ethanolic extract of *Euphorbia tirucalli* Linneau may be a promising alternative for the control of pathogenic bacterial dermatological microorganisms in the canine and feline medical clinic.

Key words: antimicrobial activity, avelós, dermatology, alcoholic extract.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau (Avelós) .....	14
Figura 2 – Fruto encapsulado proveniente da flor da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau .....	15
Figura 3 – Flor da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau .....	15
Figura 4 – Látex da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau .....	16
Figura 5 – Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva – UFPB/CAMPUS II .....	18
Figura 6 – Processo de filtração do macerado pós-triturado da parte aérea da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau, no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva – UFPB/CCA .....	18
Figura 7 – Material vegetal residual da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau .....	19
Figura 8 – Extrato da Parte Aérea da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau sendo concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida, no Laboratório de Química Analítica – UFPB/CCA .....	19
Figura 9 – Extrato do látex da <i>Euphorbia tirucalli</i> Linneau sendo concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida, no Laboratório de Química Analítica – UFPB/CCA .....	20
Figura 10 – Ágar Base Sangue .....	21
Figura 11 – Sangue de carneiro desfibrinado .....	21
Figura 12 – Semeadura das cepas bacterianas em ágar sangue de carneiro .....	21
Figura 13 – Amostras bacterianas do grupo – “A <sub>1</sub> ”: Morfologia em relação as médias. Médias seguidas das mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) .....	28
Figura 14 – Amostras bacterianas do grupo – “A <sub>2</sub> ”: Morfologia em relação as médias. Médias seguidas das mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) .....	29
Figura 15 – Amostras bacterianas do grupo – “A <sub>1</sub> ” e “A <sub>2</sub> ”: Morfologia em relação as médias. Médias seguidas das mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) .....	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos da <i>Euphorbia tirucalli</i> L. (Látex 100%, P.A. 100%, 80%, 60% e A.E. 99,8%) sobre amostras bacterianas – “A <sub>1</sub> ”. (P.A.: Parte aérea; A.E.: Álcool Etílico) .....	23
Tabela 2 – Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos da <i>Euphorbia tirucalli</i> L. (Látex 100%, P.A. 100%, 80%, 60% e A.E. 99,8%) sobre amostras bacterianas – “A <sub>2</sub> ”. (P.A.: Parte aérea; A.E.: Álcool Etílico) .....	24
Tabela 3 – Halos de inibição obtidos dos controles positivos (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, e Cefalexina) sobre amostras bacterianas – “A <sub>1</sub> ” .....	25
Tabela 4 – Halos de inibição obtidos dos controles positivos (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, e Cefalexina) sobre amostras bacterianas – “A <sub>2</sub> ” .....	25
Tabela 5a – Análises macroscópicas e microscópicas (morfotintorial) das cepas ensaiadas. (+ : Positivo; - : Negativo) .....	26
Tabela 5b – Testes de caracterização Microbiológica das cepas ensaiadas. (N.I.: Não Identificado; + : Positivo; - : Negativo) .....	26

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	11
2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	13
2.1.	Dermatopatias Bacterianas .....	13
2.2.	Resistência Bacteriana .....	13
2.3.	<i>Euphorbia Tirucalli</i> Linneau .....	14
3.	METODOLOGIA .....	18
4.	RESULTADOS .....	23
5.	DISCUSSÃO .....	31
6.	CONCLUSÃO .....	34
7.	REFERÊNCIAS .....	35

## 1. INTRODUÇÃO

Os distúrbios do sistema tegumentar têm ampla importância na clínica médica de pequenos animais, correspondendo a aproximadamente 30 a 40% dos casos (MATOS et al., 2012). Segundo Cardoso et al. (2011), 31,38% dos animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP) apresentaram problemas dermatológicos. A infecção bacteriana é comum em dermatopatias, estando secundária a um problema latente que modifica negativamente a resistência da pele (PENA, 2007). Dentre os relevantes agentes etiológicos bacterianos, encontram-se os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, sendo o *Staphylococcus pseudointermedius* o de maior ocorrência (MATOS et al., 2012).

A aplicação de uma terapia apropriada, de etiologia bacteriana, é prejudicada quando o antibiótico de primeira escolha é ineficaz, além da escolha deste antibiótico tornar-se limitada quanto maior resistência apresentar a bactéria (SALAZAR, 2011). Os animais de companhia são potenciais portadores de bactérias resistentes. Embora anteriormente tenha-se demonstrado menor interesse nestas espécies, quando comparadas aos animais de produção, atualmente isso tem mudado, graças ao maior número de estudos mostrando animais de companhia infectados ou colonizados por espécimes bacterianas multirresistentes (MURPHY et al., 2009).

A resistência das bactérias aos antimicrobianos é preocupante tanto na medicina quanto na veterinária, devido ao uso impróprio e abusivo dos antibióticos, um dos principais motivos da seleção de microrganismos resistentes, que vem disseminando-se mundialmente (MEIRELES, 2008), transformando-se em um problema na saúde animal e humana. A busca de substâncias ativas provenientes de plantas desperta interesse, devido à grande variedade de compostos com possível atividade antimicrobiana (CLEFF, 2008). Além disso, em consequência da atual problemática da resistência à terapia antimicrobiana na medicina veterinária, muitos trabalhos estão sendo realizados a procura de novas moléculas ou novas opções terapêuticas, que substituam ou somem-se aos tratamentos já existentes (GIORDANI, 2013). Das pesquisas conhecidas, destacam-se as que visam a descoberta de substâncias biológicas com extratos de plantas medicinais, com finalidade profilática e curativa, em infecções bacterianas (CLEFF, 2008), sendo que o uso popular tradicional serve como guia para pesquisas farmacológicas nesta área (MICHELIN et al., 2005).

O Brasil possui a maior reserva florestal variada do planeta, entretanto, mesmo havendo progresso de trabalhos científicos a respeito da avaliação do potencial terapêutico das plantas, ainda há carência de estudos sobre a maioria das espécies em contexto mundial. Grande parte das publicações mencionam ensaios empíricos baseados no dito popular, com 1% das espécies

vegetais validada por estudos científicos (FRANCISCO, 2010). Segundo Agra et al. (2007), o Brasil corresponde a 25% da flora mundial, tendo mais de cem mil espécies. Dentre este elevado número, a *Euphorbia tirucalli* Linneau (Avelós) vem recebendo credibilidade da ciência devido seu amplo espectro funcional oriundo da cultura popular.

No Brasil, a espécie foi cultivada para diversos fins. Assim, ganhou destaque seu uso na medicina não tradicional e no paisagismo, utilizada como “cercas-vivas”, separando as lavouras agrícolas ou propriedades, na região Nordeste do Brasil (LORENZI; MATOS, 2002). Desde a antiguidade, há registros da *Euphorbia tirucalli* L. e de outras espécies da família botânica em herbários e farmacopeias, tanto da África como do continente europeu, contendo a descrição das indicações e propriedades terapêuticas (PALMIERI et al., 2005), incluindo determinadas obras dos antigos mestres naturalistas, como Hipócrates no século V a.C., e Paracelso, no século XVI d.C. (VARRICCHIO et al., 2008b).

Apesar da reconhecida toxicidade, a *Euphorbia tirucalli* L. tem sido utilizada na medicina popular no tratamento de vários distúrbios de saúde, contudo, sem apoio científico quanto às suas indicações e concentrações aplicadas, como também às partes da planta utilizadas, tornando-se um risco para as pessoas que a utilizam. Entretanto, a planta não deixa de ser um objeto de estudo interessante para disponibilizar uma nova opção de droga vegetal à terapêutica na medicina veterinária.

Este trabalho tem como objetivo determinar a atividade antibacteriana *in vitro* dos extratos etanólicos vegetais da planta Avelós (*Euphorbia tirucalli* L.) em bactérias, isoladas e identificadas morfo-tintorialmente, provenientes de lesões cutâneas de pequenos animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba – UFPB / Campus II, Areia-PB.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Dermatopatias Bacterianas**

A presença bacteriana em lesões cutâneas não significa obrigatoriamente uma infecção. A maior parte das feridas manejadas corretamente possuem melhoras, porém fatores relativos ao paciente como idade, imunossupressão, doenças concomitantes, tipo, quantidade e patogenicidade dos microrganismos, influenciam a evolução do quadro (BAHR ARIAS et al., 2008). Variados agentes podem estar envolvidos nas doenças da pele em geral, como bactérias, parasitas e fungos, levando a quadros clínicos distintos, tanto localizados quanto disseminados (MATOS et al., 2012).

Dos principais agentes etiológicos bacterianos presentes na dermatologia de pequenos animais estão os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Em destaque a espécie *Staphylococcus intermedius*, presente na maior parte dos casos de piodermite canina (BARBOSA et al., 2011). Isolados de *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. tem sido descritos como causadores de piodermites secundárias, onde já há uma injúria na pele, modificando a resistência da mesma e assim, possibilitando a proliferação bacteriana (CONTE, 2008). Segundo Mendes (2011), o *Staphylococcus* sp. compõem a microbiota residente da pele, além de possuir facilidade de multiplicação graças a alteração de outras populações bacterianas, podendo ser isolado frequentemente nas feridas de cães e gatos.

Das afecções na clínica médica de animais de companhia, as lesões cutâneas destacam-se por sua frequência. A grande maioria é decorrente de atropelamentos e mordidas. A maioria das feridas tornam-se infectadas, irresponsivas ao tratamento preconizado (BAHR ARIAS et al., 2008). Além disso, a instituição de uma terapia correta pode ser atrasada, caso o antibiótico de primeira escolha seja ineficaz, e a escolha medicamentosa torna-se mais limitada quanto mais resistente for a bactéria (SALAZAR, 2011). No estudo realizado por Kempfer (2010), em 79 culturas analisadas de secreções cutâneas, 23 foram consideradas polimicrobianas e 56 monomicrobianas.

### **2.2. Resistência Bacteriana**

Hoje, a resistência bacteriana aos antimicrobianos é uma preocupação para a medicina humana e veterinária. O uso impróprio e abusivo dos antibióticos é uma das principais causas da seletividade de bactérias resistentes, disseminando-se por todas as regiões do planeta (MEIRELES, 2008). A resistência antimicrobiana é inerente às bactérias, sendo identificada na medicina dois anos após a introdução da penicilina em 1941 (BAHR ARIAS et al., 2012).

Porém, atualmente métodos laboratoriais tem capacidade de predizer essa resposta, ao testar *in vitro* a sensibilidade de isolados clínicos aos antimicrobianos e dosando as concentrações do fármaco em fluidos do hospedeiro (AGOSTINIS et al., 2013).

Assim como o uso excessivo de antimicrobianos em humanos leva a seleção de estirpes de bactérias resistentes, da mesma forma ocorre com os animais (SINGER et al., 2003). A prescrição do fármaco deve ser baseada nos testes de identificação bacteriana, tanto na capacidade em atingir a concentração adequada no organismo quanto a sensibilidade do microrganismo ao fármaco (VIEIRA, 2012).

### 2.3. *Euphorbia Tirucalli* Linneau

A *Euphorbia tirucalli* Linneau (Figura 1), é uma espécie do gênero *Euphorbia*, da família botânica *Euphorbiaceae*, a qual está distribuída principalmente em regiões tropicais e temperadas do planeta (parte dos continentes africano, asiático, norte, centro e sul-americanos). Pertence a uma das maiores famílias de dicotiledôneas, a qual conta com aproximadamente 300 gêneros e 7500 espécies. É uma planta originária da África, que atinge até nove metros de altura em seu habitat natural. Contém os troncos verdes cilíndricos ramificados, com folhas e flores pequenas, tendo no interior de cada flor seu fruto encapsulado (Figura 2) com três sementes ovais, suas flores são amarelo-esverdeadas, raras, estando na extremidade dos galhos (Figura 3) (WACZUK et al., 2014).



**Figura 1** - *Euphorbia tirucalli* Linneau (Avelós).

**Fonte** – Mad farmer. 2018. “*Euphorbia tirucalli* L”. Evergreen *Euphorbia Tirucalli* - descrição da flor com foto, atendimento domiciliar. Acedido em 06 de Novembro de 2018.





**Figura 2** – Fruto encapsulado proveniente da flor da *Euphorbia tirucalli* Linneau.

**Fonte** – UEPB. 2011. “*Euphorbia tirucalli* L”. Estudo do uso do aveloz (*Euphorbia tirucalli*) no tratamento de doenças humanas: uma revisão. Acedido em 06 de Novembro de 2018.



**Figura 3** – Flor da *Euphorbia tirucalli* Linneau.

**Fonte** – FAPEMA. 2014. “*Euphorbia tirucalli* L”. Estudos no Maranhão apontam a planta avelós como tratamento ao vitiligo. Acedido em 06 de Novembro de 2018

É uma planta xerófila, ou seja, adapta-se com facilidade em solos secos e pobres, em ambientes abertos ou expostos à luz, embora se plantada em solos úmidos, seu desenvolvimento torna-se lento. A planta tem sensibilidade à clima frio intenso, recomendando-se plantá-la no período entre o final da primavera e o início do verão. Graças a isso, ela teve propagação especialmente nas regiões de clima quente, como Norte e Nordeste, quando chegou no Brasil (SILVA et al., 2014), sendo utilizada como arbustos ou cercas-vivas em propriedades da região, por ser bastante resistente ao clima seco (LORENZI et al., 2003). É popularmente conhecida como avelós, coroa-de-cristo, árvore de São Sebastião, cabelo-do-diabo, cachorro-pelado, labirinto, figueira-do-diabo, dedo-do-diabo, entre outros (MACHADO, 2007).

Interiormente, suas hastes possuem um líquido suculento e tóxico (látex) (Figura 4), cujo uso tem sido estudado no tratamento de algumas doenças humanas (LORENZI et al. 2003). Em contato com a pele se torna corrosivo provocando reações alérgicas, além de diarreias, palidez, vômitos, hepatotoxicidade e efeito carcinogênico (LIMA et al., 2004; WACZUK et al., 2014). Em contato com os olhos causa ardência, dificuldade visual, conjuntivite (OLIVEIRA et al., 2007) e se o paciente não tiver o correto atendimento, evolui para cegueira e necrose tecidual (BATISTA et al., 2014).



**Figura 4** – Látex da *Euphorbia tirucalli* Linneau.  
**Fonte** – Researchgate. 2011. “*Euphorbia tirucalli* L”. Analysis of in vitro activity of high dilutions of *Euphorbia tirucalli* L. in human melanoma cells. Acedido em 06 de Novembro de 2018.

Segundo Tofanelli & Silva (2011), o látex é constituído quimicamente por hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, látex, goma tirucalli, resina, diterpenos do tipo tigliano (ésteres de phorbol) e ingenano (ésteres de ingenol), 4-desoxiforbol e 1,2-O-tetradecanoilforbol-1,1,3-acetato, 120 (22) (4E) octadienol-1,4-deoxiforbol-1,1,3-acetado, ácido 3, 3'di-O-metilelágico, betasitosterol, ácido elágico, ácido cítrico, eufol, euforona, hentriacontanol, glucose, isoeuforal, kaempferol, ácido málico, sapogenina acetatos, ácido succínico, taraxasterol taraxerina e tirucalol. Hoje, as substâncias de maior interesse farmacológico são os diterpenos do tipo tigliano (ésteres de phorbol) para feitiço toxicológico, os diterpenos do tipo ingenano (ésteres de ingenol) e o triterpeno eufol com caráter terapêutico. Outros autores como Goyal et. al. (2012) e James et. al. (2010) descrevem a presença de taninos e flavonóides como reconstituído da matriz extracelular do colágeno.

A planta é conhecida no Brasil por atuar popularmente como larvicida, bactericida, moluscida, anti-helmíntica, antitumoral, antibacteriana, antimutagênica, antisséptica, laxativa, anti-inflamatória, anticancerígena, anti-herpes, antissifilítico e cicatrizante, também é responsável pelo tratamento complementar de algumas doenças infectocontagiosas e neoplásicas (BATISTA et al., 2014; SAUAIA FILHO et. al., 2013; SANTOS et al., 2013). A planta além de ser usada como repelente na África, também é utilizada em diversos continentes contra picada de cobra (SAMPAIO et al., 2011), dores de dente, algumas parasitoses, tumores de pele e úlceras, sangramentos nasais, infecções bacterianas, hemorroidas, dores de ouvido, tosse, asma, reumatismo, cólicas e câncer (COSTA, 2012).

Apesar da reconhecida toxicidade, a *E. tirucalli* L. vem sendo utilizada desde muito tempo na medicina popular humana no tratamento de vários distúrbios de saúde, contudo, sem amparo científico adequado quanto às suas indicações e concentrações empregadas, bem como, quanto às partes da planta utilizadas, gerando, assim, um risco para os usuários. Entretanto, paradoxalmente, a planta não deixa de constituir-se como um objeto de estudo interessante para

oferecer uma nova opção de droga vegetal à terapêutica animal. Nesse sentido, a presente pesquisa, sem precedente na literatura veterinária consultada, descreve a avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* do Avelós (*Euphorbia tirucalli* L.) em microorganismos isolados, coletados de região lombar, maxilar, cervical lateral e auricular de animais de companhia atendidos no Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias – CCA/UFPB.

### 3. METODOLOGIA

O espécime utilizado (*Euphorbia tirucalli* L.) foi coletado em Areia/PB (CEP: 58397-000; WGS84: 6° 57' 46" S, 35° 41' 31" W), município brasileiro do estado da Paraíba, fundado em 1846, situado na microrregião do Brejo Paraibano e mesorregião do Agreste Paraibano, com uma área de aproximadamente 269,424 Km<sup>2</sup>. Possui clima ameno, com temperaturas que chegam a 8°C no inverno e, em dias quentes, a 30°C. As coletas foram realizadas nos turnos da manhã e/ou tarde (média de 21.7°C) em dias alternados compreendendo o período de outubro de 2017 a junho de 2018. O material vegetal utilizado foi submetido a dois métodos para extração de seus compostos metabólicos, a extração do látex e a produção do extrato a partir da parte aérea da planta.

Depois da coleta, as partes aéreas da planta destinaram-se ao Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química e Física da UFPB / Campus II, onde foram lavadas em água destilada, com descarte dos ramos atacados por pragas ou doenças. Logo após, as mesmas foram cortadas, pesadas (63,1g) e trituradas no liquidificador em contato com o álcool etílico a 99,8% (140ml). Durante o período de extração, o macerado foi acondicionado em pote de vidro, devidamente fechado, no Hospital Veterinário da UFPB / Campus II - Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva (Figura 5), sendo mantido à temperatura climatizada (em torno de 18°C), sob abrigo da luz (envolto por papel alumínio), sendo homogeneizado a cada 24 horas e filtrado com auxílio de papel filtro (Qualy - 205µm/espessura; 14µm/poros) e funil de vidro a cada 72 horas (Figura 6). Após 72 horas, o material vegetal residual (Figura 7) foi submetido novamente ao etanol a 99,8%, aplicando-se a maceração exaustiva até a extração total de seus metabólitos.



**Figura 5** – Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva – UFPB/CAMPUS II.

**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.



**Figura 6** – Processo de filtração do macerado pós-triturado da parte aérea da *Euphorbia tirucalli* Linneau, no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva – UFPB/CCA.

**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.



**Figura 7** - Material vegetal residual da *Euphorbia tirucalli* Linneau.

**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Após filtração, o extrato foi encaminhado novamente ao Laboratório de Química Analítica para ser concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida, a 60°C, para aproximadamente 1/4 do seu volume (Figura 8). O extrato filtrado e concentrado retornou ao Laboratório da Preventiva, onde foram preparadas diluições seriais de diferentes concentrações (100%, 80% e 60%) com o uso de solução salina estéril. As diluições foram acondicionadas individualmente em tubos falcons, fechados e identificados, protegidos da incidência de luz envoltos por papel alumínio e mantidos sob refrigeração a 4,4°C até o momento de suas utilizações nos experimentos.



**Figura 8** – Extrato da Parte Aérea da *Euphorbia tirucalli* Linneau sendo concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida, no Laboratório de Química Analítica – UFPB/CCA.

**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Por sua vez, o látex foi coletado através da ação mecânica lesiva aos tecidos vegetais, recolhido em tubos falcons com tampa rosqueável previamente esterilizados, acrescentado de álcool etílico a 99,8% (10ml). Os tubos com as amostras de látex devidamente identificados foram envolvidos em papel alumínio e encaminhados ao Laboratório de Química Orgânica, onde foram concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida (60 °C) para aproximadamente 1/3 do seu volume (Figura 9). O látex na concentração de 100% retornou ao Laboratório da Preventiva e foi acondicionado em balão de vidro fechado e identificado, protegido da incidência de luz envolto por papel alumínio e mantido sob refrigeração a 4,4°C até o momento de sua utilização no experimento.



**Figura 9** – Extrato do látex da *Euphorbia tirucalli* Linneau sendo concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida, no Laboratório de Química Analítica – UFPB/CCA.

**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Para os testes de atividade antimicrobiana *in vitro*, foram utilizadas as linhagens bacterianas de dermatopatias caninas e felinas provenientes do Projeto de Extensão em Dermatologia e Oftalmologia – PROBEX 2018, desenvolvido no Hospital Veterinário do CCA-UFPB. As cepas bacterianas foram coletadas e encaminhadas ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, sendo semeadas em ágar sangue de carneiro (Figura 10, 11 e 12) e incubadas em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C, prosseguindo com análises visuais, de identificação morfológica, além de testes complementares (Catalase, Oxidase e Coagulase). Posteriormente preparou-se o ágar Mueller Hinton, o qual foi distribuído em placas de Petri de 90 x 15 mm de diâmetro contendo aproximadamente 20 mL do meio.

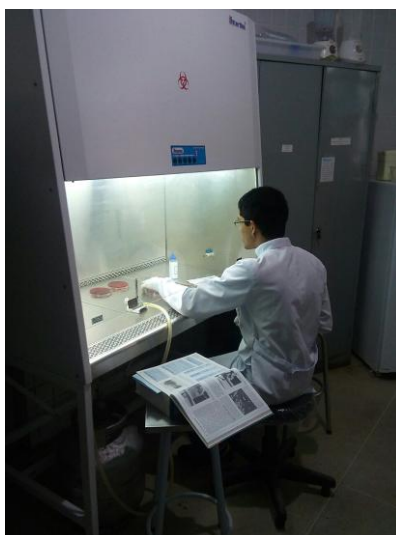




**Figura 10** – Ágar Base Sanguê.  
**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.



**Figura 11** – Sanguê de carneiro desfibrinado.  
**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.



**Figura 12** – Semeadura das cepas bacterianas em ágar sangue de carneiro.  
**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Diluiu-se os microrganismos em solução salina estéril (2ml) comparando com a turvação da escala 0,5 da escala Mc Farland (aproximadamente  $10^8$  UFC/mL) e em seguida 100  $\mu$ L de cada solução, já obedecendo os padrões de turbidez, foi semeado na superfície da placa de petri, contendo o ágar Mueller Hinton, com auxílio de alça de Drigalsky em quatro sentidos: horizontal, vertical, diagonal e circular para evitar o crescimento de colônias isoladas. As placas foram mantidas entreabertas na Cabine de Segurança Biológica pelo tempo máximo de 5 minutos, permitindo a absorção/evaporação do excesso de umidade (WAYNE, 2002).

Para determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos etanólicos foi utilizado o método de difusão em ágar, através do teste de difusão em disco estabelecido como

padrão pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (WAYNE, 2002). A metodologia consistiu em aplicar 20 µL dos extratos etanólicos da *Euphorbia tirucalli* L. (nas concentrações de látex (100%) e da parte aérea – P.A. (100%, 80% e 60%) nos discos brancos esterilizados. Em seguida colocou-se os discos sobre o meio de cultura (Mueller Hinton) previamente inoculado com a carga microbiana ( $10^8$  UFC /mL) (CHATTOPADHYAY et al., 2002; KARAMAN et al., 2003). Como controle positivo foram utilizados discos de antibióticos (Amoxicilina + Ácido Clavulânico; Cefalexina) e como controle negativo o álcool etílico – A.E. a 99,8%, aplicado com a mesma proporção dos extratos sobre discos brancos.

Em seguida as placas foram incubadas a 37 °C em estufa bacteriológica durante 24 hs. Os testes foram realizados em duplicata e os resultados expressos em milímetro (mm) pela média aritmética do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos discos nas duas repetições. Os halos foram medidos com régua milimetrada, realizadas com leituras visuais.

Os dados obtidos foram tabulados por meio do Excel 2016, onde foi usado o teste de comparações múltiplas para verificar se houve diferença de média entre os tratamentos analisados (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, Cefalexina, P.A. 100%, P.A. 80% e P.A. 60%). Os tratamentos foram testados e comparados isoladamente pelo teste de Tukey. Valores de  $p \leq 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.



#### 4. RESULTADOS

As Tabelas 1 e 2 apresentam o comportamento das cepas bacterianas testadas frente aos extratos etanólicos da *Euphorbia tirucalli* L. (Látex 100%, Parte Aérea – P.A. 100%, 80%, 60% e Álcool Etílico – A.E. 99,8%) em função do tamanho do halo de inibição de crescimento. Nesse experimento, foi considerado produto ativo aquele com atividade antimicrobiana, apenas pela presença de halo de inibição de crescimento, independentemente do seu tamanho. Todos os produtos (extratos e controle negativo) foram testados na concentração de 20 µL. De acordo com os resultados obtidos na Tabela 1, verificou-se que o extrato etanólico da Parte Aérea (P.A.) foi o único que apresentou atividade sobre as cepas ensaiadas apresentando halos de inibição de crescimento que variaram de 0,0 a 10,0 mm de diâmetro. O extrato da P.A. 100% apresentou atividade inibitória sobre todas as amostras bacterianas do grupo “A<sub>1</sub>” (variando de 1,0 a 10,0 mm de diâmetro/halo), assim como também foi verificada na concentração de 80% (variando de 0,5 a 9,0 mm de diâmetro/halo), já o extrato na concentração de 60% não apresentou halo de inibição de crescimento nas amostras bacterianas VII e VIII (variando de 0,0 a 7,0 mm de diâmetro/halo). O extrato etanólico do Látex 100% e o álcool etílico (A.E.) a 99,8% não apresentaram atividade sobre as amostras bacterianas ensaiadas.

**Tabela 1.** Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos da *Euphorbia tirucalli* L. (Látex 100%, P.A. 100%, 80%, 60% e A.E. 99,8%) sobre amostras bacterianas – “A<sub>1</sub>”. (P.A.: Parte aérea; A.E.: Álcool Etílico).

AMOSTRAS BACTERIANAS – “A <sub>1</sub> ”	PRODUTOS TESTADOS / CONCENTRAÇÃO / TAMANHO DO HALO (mm)				
	P.A. 100%	P.A. 80%	P.A. 60%	LÁTEX 100%	A.E. 99,8%
I (piloto)	10,0	9,0	7,0	0,0	0,0
II	2,0	1,0	0,2	0,0	0,0
III	4,0	2,0	0,2	0,0	0,0
IV	4,0	2,0	0,5	0,0	0,0
V	1,4	1,0	0,9	0,0	0,0
VI	3,0	2,0	1,0	0,0	0,0
VII	1,0	0,5	0,0	0,0	0,0
VIII	1,2	0,8	0,0	0,0	0,0
IX	3,5	3,0	1,5	0,0	0,0
X	3,0	1,0	0,5	0,0	0,0

A Tabela 2 apresenta o comportamento desses mesmos produtos, frente as mesmas cepas do grupo “A<sub>1</sub>”, observando-se que o extrato etanólico da P.A. também foi o único que apresentou atividade sobre as cepas ensaiadas apresentando halos de inibição de crescimento

que variaram de 0 a 10 mm de diâmetro. O extrato da P.A. 100% apresentou atividade inibitória sobre todas as amostras bacterianas do grupo “A<sub>2</sub>” (variando de 1,0 a 10,0 mm de diâmetro/ halo), o extrato da P.A. na concentração de 80% apresentou atividade inibitória na maioria das amostras bacterianas exceto a VII (variando de 0,0 a 9,0 mm de diâmetro/ halo), como também o extrato na concentração de 60% não apresentou halo de inibição de crescimento nas amostras bacterianas IV, VI, VII e VIII (variando de 0,0 a 7,0 mm de diâmetro/ halo). O extrato etanólico do Látex 100% e o álcool etílico (A.E.) a 99,8%, assim como no grupo anterior, também não apresentaram atividade sobre as amostras bacterianas ensaiadas.

**Tabela 2.** Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos da *Euphorbia tirucalli* L. (Látex 100%, P.A. 100%, 80%, 60% e A.E. 99,8%) sobre amostras bacterianas – “A<sub>2</sub>”. (P.A.: Parte aérea; A.E.: Álcool Etilico).

AMOSTRAS BACTERIANAS - "A <sub>2</sub> "	PRODUTOS TESTADOS / CONCENTRAÇÃO / TAMANHO DO HALO (mm)				
	P.A. 100%	P.A. 80%	P.A. 60%	LÁTEX 100%	A.E. 99,8%
I (piloto)	10,0	9,0	7,0	0,0	0,0
II	2,0	1,0	0,2	0,0	0,0
III	2,0	1,0	0,5	0,0	0,0
IV	2,0	1,0	0,0	0,0	0,0
V	1,5	1,0	0,9	0,0	0,0
VI	1,0	0,2	0,0	0,0	0,0
VII	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0
VIII	1,5	0,5	0,0	0,0	0,0
IX	3,0	2,0	1,0	0,0	0,0
X	3,0	3,0	1,0	0,0	0,0

As Tabelas 3 e 4 apresentam o comportamento das cepas bacterianas testadas frente aos antibióticos usados como o controle positivo (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, e Cefalexina) em função do tamanho do halo de inibição de crescimento. No experimento, em ambas as tabelas, certificou-se que os controles foram considerados ativos, confirmados com a presença de halo de inibição de crescimento. Na Tabela 3, a Cefalexina apresentou atividade inibitória sobre todas as amostras bacterianas do grupo “A<sub>1</sub>”, tendo a menor medição na amostra IX (variando de 7,0 a 28,0 mm de diâmetro/ halo), como da mesma forma procedeu a Amoxicilina + Ácido Clavulânico, tendo também a menor medição na amostra IX (variando de 7,0 a 40,0 mm de diâmetro/ halo).

**Tabela 3.** Halos de inibição obtidos dos controles positivos (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, e Cefalexina) sobre amostras bacterianas – “A<sub>1</sub>”.

AMOSTRAS BACTERIANAS - "A <sub>1</sub> "	ANTIBIÓTICOS USADOS / TAMANHO DO HALO (mm)	
	CEFALEXINA	AMOXICILINA + ÁCD. CLAVUL.
I (piloto)	20,0	19,0
II	16,0	16,0
III	28,0	40,0
IV	18,0	18,0
V	11,0	10,0
VI	12,0	18,0
VII	11,0	9,5
VIII	11,0	10,0
IX	7,0	7,0
X	23,0	24,0

A Tabela 4 apresenta o comportamento desses mesmos antibióticos, frente as mesmas cepas do grupo “A<sub>1</sub>”, observando-se que os controles também apresentaram atividade sobre as cepas ensaiadas com a presença de halos de inibição de crescimento. A Cefalexina apresentou atividade inibitória sobre todas as amostras bacterianas do grupo “A<sub>2</sub>”, tendo a menor medição na amostra IX (variando de 7,0 a 28,0 mm de diâmetro/halo), como da mesma forma procedeu a Amoxicilina + Ácido Clavulânico, tendo também a menor medição na amostra IX (variando de 7,0 a 40,0 mm de diâmetro/halo).

**Tabela 4.** Halos de inibição obtidos dos controles positivos (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, e Cefalexina) sobre amostras bacterianas – “A<sub>2</sub>”.

AMOSTRAS BACTERIANAS - "A <sub>2</sub> "	ANTIBIÓTICOS USADOS / TAMANHO DO HALO (mm)	
	CEFALEXINA	AMOXICILINA + ÁCD. CLAVUL.
I (piloto)	20,0	19,0
II	14,0	16,0
III	28,0	40,0
IV	18,0	18,0
V	10,0	9,0
VI	16,0	18,0
VII	11,0	9,5
VIII	10,0	9,0
IX	7,0	7,0
X	22,0	24,0

As Tabelas 5a e 5b, apresentam as Características Microbiológicas obtidas através de análises macroscópicas e microscópicas das cepas ensaiadas. De acordo com a Tabela 5a, das 10 amostras analisadas, 8 das amostras bacterianas coletadas foram identificadas com o aspecto colonial branco/úmido, destas, 4 foram Hemolíticas. Todas caracterizaram-se pela morfologia Cocos com arranjo em Cachos de Uva e 9 foram Gram-Negativas.

**Tabela 5a.** Análises macroscópicas e microscópicas (morfotintorial) das cepas ensaiadas. (+ : Positivo; - : Negativo).

AMOSTRAS BACTERIANAS	CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS				
	ASPECTO COLONIAL EM PLACA	HEMÓLISE EM ÁGAR	MORFOLOGIA	GRAM	ARRANJO
I (piloto)	Branca/Úmida	+	Cocos	+	Cachos de Uva
II	Branca/Úmida	+	Cocos	+	Cachos de Uva
III	Branca/Úmida	+	Cocos	+	Cachos de Uva
IV	Branca/Úmida	-	Cocos	+	Cachos de Uva
V	Branca/Úmida	-	Cocos	+	Cachos de Uva
VI	Branca/Úmida	-	Cocos	+	Cachos de Uva
VII	Branca/Úmida	-	Cocos	+	Cachos de Uva
VIII	Branca/Úmida	+	Cocos	+	Cachos de Uva
IX	Cinza/Úmida	-	Cocos	-	Cachos de Uva
X	Branca/Seca	-	Cocos	+	Cachos de Uva

Na Tabela 5b, de acordo com os testes feitos, determinou-se que 9 das amostras bacterianas coletadas foram classificadas como Catalase Positivas, com 9 Oxidase Negativas, tendo 4 Coagulase Positivas.

**Tabela 5b.** Testes de caracterização Microbiológica das cepas ensaiadas. (N.I.: Não Identificado; + : Positivo; - : Negativo).

AMOSTRAS BACTERIANAS	CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS		
	CATALASE	OXIDASE	COAGULASE
I (piloto)	+	-	N.I.
II	+	-	+
III	+	-	-
IV	+	-	+
V	+	-	N.I.
VI	-	-	-
VII	+	-	-
VIII	+	-	+
IX	+	+	+
X	+	-	N.I.

Analizando as Tabelas 1 e 2, em conjunto com as Tabelas 5a e 5b, pode-se afirmar que o extrato etanólico da *Euphorbia tirucalli* L. da parte aérea – P.A. nas concentrações de 100% e 80% promoveram halos de inibição do crescimento bacteriano com maiores atividades nas amostras bacterianas, em maior proporção presentes nas amostras do grupo “A<sub>1</sub>”, com aspecto colonial branco/úmido, tanto nas hemolíticas quanto não-hemolíticas, de morfologia cocos, Gram-positivas e com arranjo em cachos de uva. Dos testes realizados, seus efeitos ativos foram nas catalase positivas, oxidase negativas e coagulase tanto positivas quanto negativas. O extrato etanólico da P.A. na concentração de 60% promoveu em menor quantidade halos de inibição do crescimento bacteriano, entretanto, também demonstrou maior atividade nas amostras bacterianas com características microbiológicas semelhantes às concentrações anteriores do mesmo grupo – “A<sub>1</sub>”.

Notou-se também a presença de halos de inibição de crescimento bacteriano com atividade menos ativa nas amostras, em maior destaque no grupo “A<sub>2</sub>”. Com o uso da P.A. nas concentrações de 100% e 80% os menores halos foram verificados nas bactérias com aspecto colonial branco/úmido, nas não-hemolíticas, de morfologia cocos, Gram-positivas e com arranjo em cachos de uva. Dos testes realizados, seus menores efeitos ativos também foram verificados nas amostras catalase positivas, oxidase negativas e coagulase tanto positivas quanto negativas.

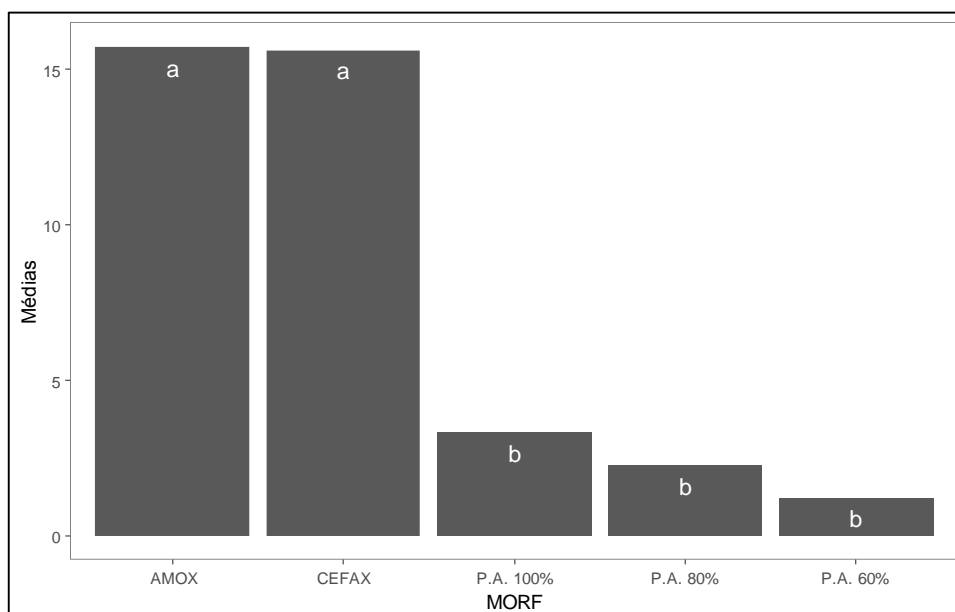
Analizando as Tabelas 3 e 4, em conjunto com as Tabelas 5a e 5b, pode-se afirmar que os antibióticos usados como o controle positivo (Amoxicilina + Ácido Clavulânico, e Cefalexina) em função do tamanho do halo de inibição de crescimento, demonstraram maiores atividades nas amostras bacterianas, em proporções quase semelhantes em ambos os grupos - “A<sub>1</sub>” e “A<sub>2</sub>”. A Cefalexina apresentou uma maior atividade inibitória frente às bactérias com aspecto colonial branco/úmido, tanto nas hemolíticas quanto não-hemolíticas, de morfologia cocos, Gram-positivas e com arranjo em cachos de uva. Dos testes realizados, seus maiores efeitos ativos foram nas catalase positivas, oxidase negativas e coagulase negativas. A Amoxicilina + Ácido Clavulânico apresentou uma maior atividade inibitória frente às bactérias com aspecto colonial branco/úmido e sobre a amostra branca/seca, tanto nas hemolíticas quanto não-hemolíticas, de morfologia cocos, Gram-positivas e com arranjo em cachos de uva. Dos testes realizados, seus maiores efeitos ativos foram nas catalase positivas, oxidase negativas e coagulase negativas.

Verificou-se halos de inibição de crescimento bacteriano com menores atividades em algumas amostras bacterianas, presentes em ambos os grupos – “A<sub>1</sub>” e “A<sub>2</sub>”, determinando-se o menor halo pelos controles positivos na bactéria com aspecto colonial Cinza/úmido, não-

hemolítica, de morfologia cocos, Gram-Negativa e com arranjo em cachos de uva. Dos testes realizados, os menores efeitos ativos também foram observados nesta mesma amostra bacteriana, classificada como catalase, oxidase e coagulase positivas.

De acordo com a Figura 13 (amostras bacterianas do grupo – “A<sub>1</sub>”), os resultados demonstraram que a Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMOX), e a Cefalexina (CEFAX) foram os parâmetros morfológicos que apresentaram maior média, com 15,7% e 15,6%, respectivamente, mostrando que entre elas não houve diferença significativa. Sobre a probabilidade dos dados analisados, verificou-se menor probabilidade da P.A. na concentração de 60%, que foi de 1,18%, seguidas das demais concentrações, P.A. 80% com 2,23% e P.A. 100% que ficou sendo 3,31%. Isso mostra que em relação à Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMOX), e à Cefalexina (CEFAX) houve diferença significativa quando comparados com as médias da P.A. (60%, 80% e 100%).

**Figura 13** – Amostras bacterianas do grupo – “A<sub>1</sub>”: Morfologia em relação as médias. Médias seguidas das mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

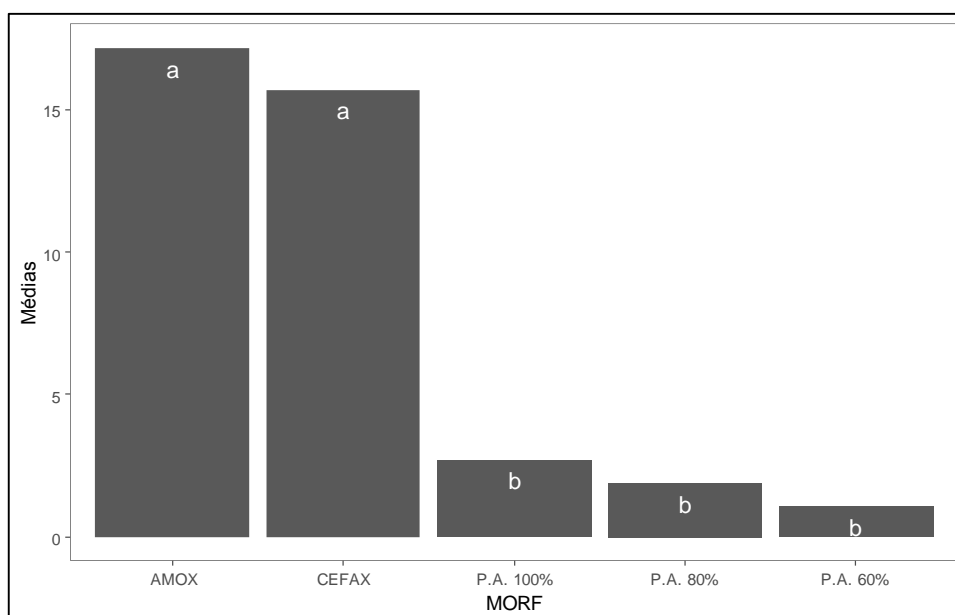


**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Já na Figura 14 (amostras bacterianas do grupo – “A<sub>2</sub>”), apresentou diferença média significativa entre os parâmetros morfológicos analisados, tendo em vista que a maior média entre eles ocorreu em Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMOX - 17,15%), seguida pela Cefalexina (CEFAX - 15,7%) e as demais que ficaram nas médias observadas da P.A. 100% (2,69%), 80% (1,87%) e 60% (1,06%). Se comparados os parâmetros de médias analisadas por meio do teste de Tukey, observou-se que Amoxicilina + Ácido Clavulânico (AMOX)

apresentou a maior média entre os dois grupos, e o grupo – “A<sub>2</sub>” foi o que apresentou as menores médias de P.A. (60%, 80% e 100%), mostrando que em ambos os grupos houve diferença significativa.

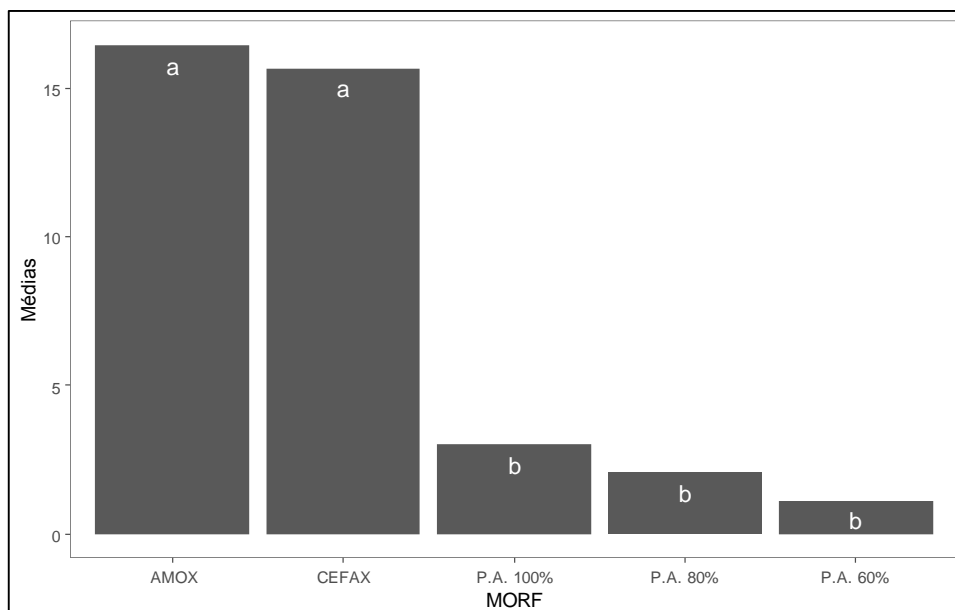
**Figura 14** – Amostras bacterianas do grupo – “A<sub>2</sub>”: Morfologia em relação as médias. Médias seguidas das mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Por fim, quando observamos a Figura 15 (amostras bacterianas do grupo – “A<sub>1</sub>” e “A<sub>2</sub>”), percebemos que o mesmo também apresentou comportamentos semelhantes em relação as Figuras 13 e 14, onde foram observadas diferenças significativas entre as médias de AMOX, CEFAX com 16,425% e 15,650%, respectivamente, em relação às médias de P.A. (100%, 80% e 60%), que foram 3%; 2,05% e 1,12%, respectivamente.

**Figura 15** – Amostras bacterianas do grupo – “A<sub>1</sub>” e “A<sub>2</sub>”: Morfologia em relação as médias. Médias seguidas das mesmas letras são iguais entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



**Fonte** – Arquivo Pessoal, 2018.

Em relação à avaliação da concentração inibitória mínima (CIM), como foram utilizadas apenas os extratos etanólicos da *Euphorbia tirucalli* L. - Látex (100%) e Parte Aérea (100%, 80% e 60%), testadas frente a amostras bacterianas de dermatopatias caninas e felinas, no presente estudo, a concentração da P.A. 60% (20  $\mu$ L) dos extratos etanólicos da Parte Aérea obtidos de plantas frescas de *Euphorbia tirucalli* L. promoveu as menores CIM (0,2 mm/halo). Possivelmente concentrações abaixo dessa não promoverão a inibição do crescimento das bactérias em estudos *in vitro* utilizando a mesma metodologia. Assim como o Látex 100% (20  $\mu$ L) não promoveu inibição do crescimento bacteriano, também não ocorrerá possíveis inibições das bactérias em estudos com concentrações menores que esta.



## 5. DISCUSSÃO

Em pequenos animais saudáveis, o *Staphylococcus pseudintermedius* compõe parte da microflora cutânea normal, habitando a pele, folículos pilosos e regiões mucocutâneas, como a boca, o nariz e ânus (ALLAKER et al., 1992; BANNOEHR & GUARDABASSI, 2012). Segundo Barbosa et al. (2011), as bactérias Gram-positivas predominam nos isolamentos onde há infecção bacteriana, assim como foi visto na pesquisa.

De acordo com Quinn et al. (2002) e Bond & Loeffler (2012), o gênero *Staphylococcus* são bactérias Gram-positivas, com aspeto microscópico semelhante a cachos de uvas e catalase positiva, correlacionando com os resultados vistos pela maior parte das características microbiológicas. A flora residente da pele canina inclui, ainda, *Micrococcus* spp., estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos, corineformes aeróbios, *Acinetobacter* spp. e outros anaeróbios (SYKES, et al., 2014), sendo menos comum o *Staphylococcus aureus* (FRANK et al., 2003; GRIFFETH et al., 2008). Bactérias Gram negativas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. e *Escherichia coli* também podem ser isoladas em caso de piodermite profunda (IHRKE, 2006; MILLER et al., 2013), embora acredite-se que a sua invasão seja secundária a alterações ambientais causadas por *S. pseudintermedius* (SYKES, et al., 2014), já que infecções causadas por Gram-negativas sem coinfeção estafilocócica é extremamente rara (IHRKE, 2006), o que pode justificar o aparecimento de Gram-negativa em apenas uma das amostras.

A confirmação da atividade antibacteriana da *Euphorbia tirucalli* L. vista no trabalho condiz com o exposto por Duke (2011), alegando que alguns dos princípios ativos da planta apresentam atividade antibacteriana comprovada cientificamente, assim como também afirma Bessa et. al. (2010).

Na avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos da *Euphorbia tirucalli* L. (Látex 100%, P.A. 100%, 80%, 60% e A.E. 99,8%), ficou demonstrado no presente estudo, que a planta apresenta potencial antibacteriano sobre o crescimento de bactérias de dermatopatias caninas e felinas. De acordo com Silva (2002) e Varricchio et al. (2008a) os compostos terpênicos são os componentes fitoquímicos majoritários da *E. tirucalli* L., segundo Silva (2007), a maioria encontrados na espécie são os diterpenos 20C e os triterpenos 30C. Várias classes de diterpenos têm demonstrado potencial antimicrobiano, principalmente contra bactérias do tipo Gram-positivas (TATSIMO et al., 2006; RÓZALSKI et al., 2007; FUKUMOTO et al., 2008), aspecto que teve predomínio na pesquisa, como suposto por Barbosa et al. (2011). Além da presença de taninos (SOTOHY et al., 1995; SCALBERT, 1991), saponinas (ISSAC et. al., 1999) e flavonóides em sua composição química, pois há relatos na literatura que

descrevem atividades antimicrobianas dessas classes de compostos (WENIGER et. al., 2005; SIMÕES et. al., 2004; PERRUCHON, 2002). Adicionalmente, segundo Gurgel da Rocha et. al. (2009), são encontrados componentes como ácido cítrico, ácido málico e ácido elágico, que tem ações especificamente antibacterianas.

Os dados obtidos permitem supor que as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis aos preparados obtidos da parte aérea (100%, 80%, 60%) da *Euphorbia tirucalli* L.. Embora o halo obtido na concentração a 100% não tenha sido maior, observou-se que as inibições dos microrganismos ocorrem em concentração 40% menor quando expostos, isto provavelmente deve-se às possíveis diferenças na composição química do extrato testado.

Após o uso do extrato etanólico do Látex (100%), verificou-se que não ocorreu inibição do crescimento bacteriano ao redor dos discos impregnados com 20 µL. Embora Gurgel da Rocha et.al. (2009) descreva ações antibacterianas graças à presença de taninos, flavonóides, ácido cítrico, ácido málico e ácido elágico no látex, no presente estudo não foram confirmadas essas atividades. Ao que tudo indica, a concentração dos metabólitos secundários vegetais sofre alteração quantitativa em função da influência de fatores climáticos, fornecimento hídrico, época de plantio e colheita, horário de coleta, nutrição e manejo do solo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). No caso da família *Euphorbiaceae*, é possível observar uma variabilidade na concentração de compostos presentes na espécie *E. tirucalli* L., como em ésteres diterpênicos de forbol, como o ingenano e o tigiano, quando obtidos de diferentes locais de plantio, trazem variabilidade dos efeitos descritos na literatura (FURSTENBERGER; HECKER, 1986). Logo, o potencial antibacteriano exibido pelo extrato etanólico do Látex (100%), frente a bactérias Gram-positivas e negativas de dermatopatias caninas e felinas deve ser investigado com mais detalhes, a fim de representar alternativas terapêuticas aplicáveis em tratamentos.

A atividade inibitória de melhor resultado no controle positivo foi conferida ao antibiótico Amoxicilina + Ácido Clavulânico, segundo Barbosa et al. (2011), atribui-se ao fato de que 90% dos *Staphylococcus pseudointermedius* isolados de cães com piodermites são sensíveis ao antibiótico. Stegemann et. al. (2007) referem uma taxa de eficácia de tratamento de piodermite superficial e profunda de 92,5% com amoxicilina + ácido clavulânico.

Segundo os resultados de Sfaciotte et. al. (2014), quando comparados os microrganismos, a cefalexina apresentou maior porcentagem de resistência nos cocos gram positivos, podendo justificar ao menor resultado como controle positivo. Já na amostra IX, ambos os controles positivos tiveram os menores resultados de atividade inibitória bacteriana. A cefalexina desenvolve sua ação preferencialmente sobre bactérias Gram-positivas e com muito menos frequência sobre bactérias Gram-negativas (VAZ, 2002).

Conforme o uso do controle negativo realizado com álcool absoluto (99,8%), o resultado apontado não interferiu na ação antimicrobiana dos extratos, assim como foi de acordo no trabalho de Mendonça et. al. (2016), utilizando uma outra planta, mas com o mesmo solvente. De acordo com Tortora et. al. (2005), o etanol puro é menos efetivo que as soluções aquosas, pois desnaturação requer água, e na sua ausência, as proteínas não são desnaturadas tão rapidamente quanto na presença dela, razão pela qual que o etanol absoluto, sendo um agente desidratante, tem menos efetividade que soluções aquosas. Dessa forma, a ação do álcool absoluto é menor que a ação do álcool sobre solução aquosa, tendo o álcool absoluto menor poder microbicida (ANDRADE et. al., 2002).

Vale ressaltar que os testes de sensibilidade *in vitro* realizados pelo método de disco-difusão sofrem interferência de alguns fatores incontrolláveis, que podem ser responsáveis por resultados variáveis, como por exemplo, o coeficiente de difusão de cada produto analisado (OSBALDISTON et. al., 1973). Não obstante, segundo a Anvisa (2008), é um dos métodos de sensibilidade mais simples e confiáveis.

Esses resultados formam uma boa base para a seleção de espécies de plantas candidatas para extração de mais fitoquímicos e investigação farmacológica com propriedades antibacterianas que podem ser utilizados como agentes antimicrobianos em novos fármacos para o tratamento de doenças infecciosas causadas por patógenos dermatológicos.

Para além da importância fundamental da continuação de estudos de investigação nesta área, torna-se, ainda, de maior relevância a divulgação e sensibilização da problemática da resistência bacteriana perante a comunidade Médico-Veterinária. A aplicação de antibióticoterapia de forma empírica, sem realização de antibiograma, pode resultar, além de um tratamento mal sucedido, em perdas econômicas, com a procura, por parte do cliente, de outras alternativas.

## 6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados pode-se afirmar que existe a necessidade de se padronizar e aprofundar as técnicas de determinação de atividade antimicrobiana da *Euphorbia tirucalli* L. É importante lembrar que outras metodologias podem ser utilizadas, com o intuito de corroborar e assegurar estes resultados. Houve formação de halos de inibição de crescimento bacteriano demonstrados no presente estudo, alegando atividade inibitória sobre bactérias de dermatopatias caninas e felinas, embora não se pôde obter informações a respeito de sua real eficiência devido a impossibilidade de obtenção de valores de referência. Esse percalço não pode ser contornado já que a identificação bacteriana das cepas obtidas dos atendimentos do hospital veterinário não estavam sendo realizadas devido à falta de recursos enfrentada pela instituição no presente momento.

## 7. REFERÊNCIAS

AGOSTINIS, R. O.; MELLO, P. L.; DE ALMEIDA MARTINS, Lisiane. Importância do mapeamento e monitoramento do perfil de resistência e detecção dos genes de resistência de *Staphylococcus* sp. relacionados à mastite bovina. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 15, n. 1, 2013.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ALLAKER, R. P. et al. Colonization of neonatal puppies by staphylococci. **British Veterinary Journal**, v. 148, n. 6, p. 523-528, 1992.

ANDRADE, D. et al. Álcoois: a produção do conhecimento com ênfase na sua atividade antimicrobiana. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 35, n. 1, p. 7-13, 2002.

ANVISA. Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos, 2008. Disponível em: < [http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede\\_rm/cursos/boas\\_praticas/modulo5/interpretacao.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/interpretacao.htm) >. Acesso em: 22. Agosto. 2018.

BAHR ARIAS, M. V. et al. Identificação da suscetibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de cães e gatos com feridas traumáticas contaminadas e infectadas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 4, 2008.

BAHR ARIAS, M. V.; DANTAS DE MAIO CARRILHO, C. M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação?. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, 2012.

BANNOEHR, J.; GUARDABASSI, L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. **Veterinary dermatology**, v. 23, n. 4, p. 253-352, 2012.

BARBOSA, D. C. et al. Dermatopatias piogênicas em cães de abrigo e padrões de sensibilidade aos antimicrobianos in vitro de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*. **Clínica Veterinária**, n. 93, p. 72-78, 2011.

BATISTA, E. K. F. Avaliação do efeito de formulações com o látex da *Euphorbia tirucalli* na terapêutica tópica de feridas cutâneas: aspectos clínicos e histopatológicos. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 8, n. 2, p. 01-11, 2014.

BESSA, G. O. et al. Avaliação da atividade angiogênica e do potencial de cicatrização do látex de *euphorbia tirucalli* (aveloz). 2010.

BOND, R.; LOEFFLER, A. What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 3, p. 147-154, 2012.

CARDOSO, M. J. L. et al. Dermatopatias em cães: revisão de 257 casos. **Archives of Veterinary Science**, p. 66-74, 2011.

CHATTOPADHYAY, D. et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore: *Mallotus peltatus* leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, n. 2-3, p. 229-237, 2002.

CLEFF, M. B. Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum Vulgare* L. frente a fungos de importância em veterinária com ênfase em *Candida* spp. 2008.

CONTE, A. P.; DO NORTE, B. Demodicose canina generalizada: relato de caso. **Braço do Norte**, 2008.

COSTA, L. S. Estudo do uso do aveloz (*Euphorbia tirucalli*) no tratamento de doenças humanas: uma revisão. 2012.

DUKE, J. A. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. 2011. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/farmacy2.pl>>. Acesso em: 20. Julho. 2018.

FRANCISCO, K. S. F. et al. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2010.

FRANK, L. A. et al. Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from dogs with pyoderma. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 4, p. 451-454, 2003.

FURSTENBERGER, G.; HECKER, E. On the active principles of the Euphorbiaceae, XII. Highly unsaturated irritant diterpene esters from *Euphorbia tirucalli* originating from Madagascar. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 3, p. 386-397, 1986.

FUKUMOTO, A. et al. Cyslabdan, a new potentiator of imipenem activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, produced by *Streptomyces* sp. K04-0144. **The Journal of antibiotics**, v. 61, n. 1, p. 1, 2008.

GIORDANI, C.. Investigação de plantas medicinais e tóxicas em Pelotas-RS e determinação da atividade antifúngica frente a *Malassezia pachydermatis*. 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GOYAL, M.; NAGORI, B. P.; SASMAL, D. Wound healing activity of latex of *Euphorbia caducifolia*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 786-790, 2012.

GRIFFETH, G. C. et al. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. **Veterinary dermatology**, v. 19, n. 3, p. 142-149, 2008.

GURGEL DA ROCHA, F. A.; SANTOS DANTAS, L. Í. Atividade antimicrobiana in vitro do látex do aveloz (*Euphorbia tirucalli* L.), pinhão bravo (*Jatropha mol lissima* L.) e pinhão roxo (*Jatropha gossypifolia* L.) sobre microrganismos patogênicos. **Holos**, v. 4, 2009.

IHRKE, P.J. (2006) Bacterial Infections of the Skin. In: C. E. Greene, **Infectious Diseases of the Dog and Cat** (3ª Ed., pp. 807-812). St. Louis Missouri, Saunders Elsevier.

ISSAC, O. Die Ringelblume. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1992 apud SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. O. S.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. (Orgs.) **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/Ed. Da UFSC, p. 616, 1999.

JAMES, O. et al. Phytochemical composition, bioactivity and wound healing potential of *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) leaf extract. **International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research**, v. 1, n. 1, p. 54-63, 2010.

KARAMAN, I. et al. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **Journal of ethnopharmacology**, v. 85, n. 2-3, p. 231-235, 2003.

KEMPFER, C. B. et al. Culturas de secreções de pele: estudo de prevalência e sensibilidade aos antimicrobianos em um hospital universitário. **Saúde (Santa Maria)**, v. 36, n. 1, p. 57-68, 2010.

LIMA, L. G. S. et al. Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de soluções diluídas e dinamizadas de *Euphorbia tirucalli* Lineu (Aveloz). **Journal**, v. 20, n. 2, p. 179-186, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 385p.

MACHADO, M. M. et al. Perfil fitoquímico e avaliação dos principais efeitos biológicos e imunológicos in vitro da *Euphorbia tirucalli* L. 2007

MATOS, C. B. et al. Multifactorial dermatitis in a dog. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1478-1482, 2012.

MEIRELES, M. A. O. M. Uso de antimicrobianos e resistência bacteriana: Aspectos socioeconômicos e comportamentais e seu impacto clínico e ecológico. **Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas**, 2008.

MENDES, Z. F. Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura e pomada de *Ruta graveolens* (Arruda) sobre bactérias isoladas de feridas cutâneas em cães. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 2, n. 3, p. 32-36, 2011.

MENDONÇA, A. T. et al. A utilização dos extratos hidroalcoólico e alcoólico de *Eugenia uniflora* L. como agente antibacteriano. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 1, p. 826-833, 2016.

MICHELIN, D. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, n. 4, p. 316-20, 2005.

MILLER, W. H. et al. **Muller and Kirk's Small Animal Dermatology7: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology**. Elsevier Health Sciences, 2013.

MURPHY, C. et al. Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: a preliminary study. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 50, n. 10, p. 1047, 2009.

OLIVEIRA, R. B. de; GIMENEZ, V. M. M.; GODOY, S. A. P. Intoxicações com espécies da família Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 50, n. 01, 2007.

OSBALDISTON, G. W. et al. **Laboratory procedures in clinical veterinary bacteriology**. 1973.



PALMIERI, R. R.; VARRICCHIO, M. C. B. N.; CAXITO, M. L. Ação Citotóxica e moduladora do extrato e do látex de *Euphorbia tirucalli* L. (Avelóz) em células de melanoma. In: **XXVII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural**. Rio de Janeiro, 2005. p.153

PENA, S. B. Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de garça, São Paulo-Brasil. 2007.

PERRUCHON, S. Estudio das propiedades dos flavonóides para cosméticos através do relacionamento função-estrutura. **Cosm & Toil**, v. 14, n. 6, p. 74, 2002.

QUINN, P. J. et al. Veterinary microbiology and microbial disease. 166-1117 Osney Mead. 2002.

RÓZALSKI, M. et al. Antimicrobial activity of diterpenoids from hairy roots of *Salvia sclarea* L.: Salvipisone as a potential anti-biofilm agent active against antibiotic resistant *Staphylococci*. **Phytomedicine**, v. 14, n. 1, p. 31-35, 2007.

SALAZAR, A. S. L. M. O. **Estudo da resistência às cefalosporinas de terceira geração de isolados de *Escherichia coli* de origem canina**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária.

SAMPAIO, A. L. F.; LEITÃO, T. C. A. Analysis of in vitro activity of high dilutions of *Euphorbia tirucalli* L. in human melanoma cells. **Int. J. High Dilution Res.**, v. 10, n. 36, p. 183-193, 2011.

SANTOS, O. J. et al. Cicatrização gástrica com uso do extrato da *Euphorbia Tirucalli* L.: estudo em ratos. **Arq. Bras. Cir. Dig.**, v. 26, n. 4, p. 256-259, 2013.

SAUAIA FILHO, E. N. et al. Evaluation of the use of raw extract of *Euphorbia tirucalli* L. in the healing process of skin wounds in mice. **Acta cirurgica brasileira**, v. 28, n. 10, p. 716-720, 2013.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SFACIOTTE, R. A. P.; VIGNOTO, V. K. C.; WOSIACKI, S. R. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados bacterianos de afecções clínicas do hospital veterinário da Universidade Estadual de Maringá. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 1, n. 1, p. 29-38, 2014.

SILVA, C. A. M. Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardnerii* (Mart. & Miq.) Baehni (Sapotaceae). 2007.

SILVA, R. B. L. A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá-AP, Brasil. **Belém, Pará, Brasil: Universidade Federal Rural da Amazonia**, 2002.

SILVA, R. A. O. et al. Prospecção tecnológica de fitoterápico (*Euphorbia tirucalli* L.) utilizado no tratamento de neoplasias e outras doenças. **Cadernos de Prospecção**, v. 6, n. 4, p. 490, 2014.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: Editora da UFSC; p. 615-56, 2004.

SINGER, R. S. et al. Antibiotic resistance—the interplay between antibiotic use in animals and human beings. **The Lancet infectious diseases**, v. 3, n. 1, p. 47-51, 2003.

SOTOHY, S. A.; ISMAIL, A. A.; MUELLER, W. Further studies on the antimicrobial properties of some plant materials in relation to their tannin content. In: **Proceedings of the Third Scientific Congress Egyptian Society for Cattle Diseases**. 1995.

STEGEMANN, M. R. et al. Clinical efficacy and safety of cefovecin in the treatment of canine pyoderma and wound infections. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, n. 7, p. 378-386, 2007.

SYKES, J. E.; NAGLE, T. M.; WHITE, S. D. Infection of Selected Organ Systems. **JE Sykes, Canine and Feline Infectious Diseases**, p. 800-813, 2014.

TATSIMO, S. J. N. et al. Antimicrobial principle from *Aframomum longifolius*. **Planta medica**, v. 72, n. 02, p. 132-135, 2006.

TOFANELLI, E. J.; SILVA, F. A. Propriedades fitoterápicas de *Euphorbia tirucalli* L.: da etnobotânica a farmacognosia. **BIOFAR**, v. 6, n. 1, 2011.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R. & CASE, C. L. Microbiologia. 8ª ed. Porto Alegre: *Artmed*, 2005.

VARRICCHIO, M. C. B. N. et al. *Euphorbia tirucalli*: análise qualitativa do desenvolvimento vegetal durante o cultivo in vitro. **Revista de Biologia e Farmácia**. v. 3, p. 53-65, 2008a.

VARRICCHIO, M. C. B. N. et al. O uso de *Euphorbia tirucalli* (Aveloz) em medicina tradicional e as evidências científicas. **Rev. Bio. e Farmácia. Rio de Janeiro**, v. 3, n. 1, 2008b.

VAZ, L. C. S. Cefex 500 mg - cefalexina. Vetrio, 2002. Disponível em: <<http://www.vetrio.com.br/produtosDetalhe/cefex-500-mg-cefalexina/107>>. Acesso em: 22. Agosto. 2018.

VIEIRA, J. M. C. Tratamento da piodermite recidivante em cães e gatos causadas por microrganismos multirresistentes. 2012.

WACZUK, E. P. et al. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos, toxicológicos e farmacológicos da *Euphorbia Tirucalli* L.: dos riscos às possibilidades. **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v. 9, n. 1/2, p. 35-64, 2014.

WAYNE, P. A. National committee for clinical laboratory standards. **Performance standards for antimicrobial disc susceptibility testing**, v. 12, p. 01-53, 2002.

WENIGER, B. et al. Bioactive triterpenoids from *Vochysia pacifica* interact with cyclic nucleotide phosphodiesterase isozyme PDE4. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 19, n. 1, p. 75-77, 2005.